Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Würzburg

Direktor: Professor Dr. R. Naujoks

STOFFWECHSELAKTIVITÄT VON NEISSERIA PERFLAVA BEI UNTERSCHIEDLICHEM pH UND VERSCHIEDENEN NaF-KONZENTRATIONEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Klaus Helm

aus Mömlingen

Würzburg 1966

1967

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Würzburg
Direktor: Professor Dr. R. Naujoks

STOFFWECHSELAKTIVITÄT VON NEISSERIA PERFLAVA BEI UNTERSCHIEDLICHEM pH UND VERSCHIEDENEN NaF-KONZENTRATIONEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Klaus Helm
aus Mömlingen
Würzburg 1966

Referent: Professor Dr. R. N a u j o k s

Tag der Promotion: 16. 1. 67

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

MEINER LIEBEN FRAU

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einleitung und Literaturübersicht 1

I. Ätiologie der Karies 1

a) Die Bedeutung der Kohlenhydrate für die Kariesentstehung 1

b) Die Bedeutung des Kontaktes der Nahrung mit den Zähnen für die Kariesentstehung 3

c) Die Bedeutung der Bakterien - insbesondere der Neisserien - für die Kariesentstehung 4

II. Kariesprophylaktische Maßnahmen 8

III. Mechanismus der kariesreduzierenden Fluorwirkung 10

Problemstellung 15

Material und Methoden 16

Statistik 20

Ergebnisse 21

Diskussion 31

Zusammenfassung 36

Literaturverzeichnis 38

EINLEITUNG UND LITERATURÜBERSICHT

I. Ätiologie der Karies

Aus der Vielfalt der Forschungsbeiträge zur Kariesätiologie haben sich als Quintessenz drei Kausalfaktoren herauskristallisiert, ohne deren Zusammentreffen ein Auftreten von kariösen Läsionen nicht möglich ist (42). Der Komplex der Kariogenese stellt - um BERGER (2) zu zitieren - eine Trias dar, die aus einer diätetischen, mikrobiellen und lokalen Komponente besteht. CREMER (18) bekräftigt diese Erkenntnis durch die Maximen: Keine Karies ohne Anwesenheit von Kohlenhydraten, keine Karies ohne Anwesenheit von Bakterien, keine Karies ohne Kontakt der Nahrung mit den Zähnen.

a) Die Bedeutung der Kohlenhydrate für die Kariesentstehung

Seit MILLER (56) gehen wir von der Vorstellung aus, daß der erste Angriff auf die Zahnhartsubstanz von den Säuren geführt wird, die aus dem bakteriellen Stoffwechsel stammen. Säuren entstehen aber im wesentlichen nur beim fermentativen Abbau der Kohlenhydrate entweder über den Dickens-Horecker-Zyklus oder über den Embden-Meyerhof-Weg.

Experimente an weißen Ratten durch SHAW (70) bestätigten die Bedeutung der Kohlenhydrate bei der Kariesätiologie. Kohlenhydratfreie oder nur 5 % Zucker enthaltende Diät förderte die Zahnkaries nicht. Auch Ratten, denen die Speicheldrüsen entfernt worden waren - eine Operation, die die Kariesempfänglichkeit gewaltig steigert (73) - , liessen bei kohlenhydratarmer Kost keine Karies erkennen. Sogar wiesen Ratten, die nach zwanzigtägiger zuckerreicher Diät an florider Karies erkrankt waren, nach weiteren 20 Tagen bei jetzt kohlenhydratfreier Ernährung keine neuen Kariesläsionen auf.

Beobachtungen und Untersuchungen bei abgeschlossen lebenden Völkern und Stämmen, deren Lebensgewohnheiten eine kohlenhydratarme Ernährung bedingen, weisen ebenfalls auf die Kohlenhydrate als kariogene Stoffe hin. Als Beispiel führen PEDERSEN (63) und BAARREGAARD (1) die Eskimos an, die durch ihre Abgeschiedenheit von der Zivilisation auf eine kohlenhydratfreie Kost - hauptsächlich Fleisch von Seehunden, Eisbären und Fischen - angewiesen sind. Zeigten bei dieser Ernährungsweise weniger als 5 % der Bevölkerung kariöse Defekte, so wurde in Handelsstützpunkten, die eine kohlenhydratreiche Lebensweise ermöglichen, durch Anstieg der Karies die Rolle der Kohlenhydrate besonders offenkundig.

Aus diesem Grund wird in der Kariesprophylaxe immer wieder

auf die Schädlichkeit des Zuckers in der Nahrung hingewiesen, und eine Einschränkung des Zuckerkonsums gefordert (38). Das Vipeholm-Experiment (32,33), das fünf Jahre lang an rund 450 Versuchspersonen durchgeführt wurde, zeigte auf, daß die Forderung nach einem totalen Zuckerverzicht als übertrieben anzusehen ist. Die Kariesaktivität wurde nämlich nur dann signifikant gesteigert, wenn Zucker zwischen den Mahlzeiten in klebriger, haftender Form dargeboten wurde. Schokolade, Karamelbonbons und Toffees erwiesen sich als die Hauptschuldigen und nicht der Zucker, der in den Mahlzeiten enthalten war.

b) Die Bedeutung des Kontaktes der Nahrung mit den Zähnen für die Kariesentstehung

Mit dem Vipeholm-Experiment wurde zugleich vor Augen geführt, daß der diätetische Faktor auf direktem Wege, d.h. durch unmittelbare lokale Wirkung der Zuckerabbauprodukte, auf die Kariesentstehung Einfluß nimmt. Zwar wurde auch eine indirekte Einwirkung über den Stoffwechsel des Organismus angenommen (47), in dem über den Säuren - Basen - Haushalt die Wasserstoffionen-Konzentration des Speichels ungünstig beeinflußt werden soll. Von anderer Seite jedoch wurde bezweifelt, daß der Speichel überhaupt in meßbarem Ausmaß am Säuren - Basen - Haushalt teilnimmt (67).

Den schlagendsten Beweis für die Behauptung, daß für eine Kariesentstehung der Kontakt der kariogenen Stoffe mit den Zähnen unbedingt erforderlich sei, lieferten Tierversuche von KITE et al. (43). Ratten wurden mit kohlenhydratreicher Kost durch eine Magensonde ernährt. Während die Kontrollgruppe an florider Karies erkrankte, blieb die andere vollkommen kariesfrei.

c) Die Bedeutung der Bakterien - insbesondere der Neisserien - für die Kariesentstehung

Dem dritten Faktor in der Trias der Kariesätiologie, dem Mitwirken der Mundbakterien, wurde seit der Zeit von MILLER (56) eine bedeutende Rolle zugeschrieben. MILLER nahm an, daß die Karies eingeleitet wird durch eine Entkalkung des Schmelzes durch organische Säuren. Die Säuren würden, wie oben schon erwähnt, einer fermentativen Umwandlung der Kohlenhydrate durch Bakterien entspringen. In der zweiten Phase, so nahm er an, würde dann die organische Grundsubstanz des Schmelzes von proteolytischen Mikroorganismen aufgelöst werden. BODECKER und BODECKER (4) hinwiederum gaben bei der Initiation der Karies den proteolytischen Bakterien den Vorzug. SCHATZ et al. (53) stellten die Theorie auf, daß Bakterien die organischen Bestandteile des Schmelzes zu chelatbildenden Verbindungen abbauen, die sich mit dem Hydroxylapatit verbinden und ihn in wasserlösliche Form überfüh-

ren. PINCUS (64) schließlich vermutete, daß Sulfatasen bildende Bakterien die Sulfate des Schmelzproteins zu schwefliger Säure umwandeln, die dann den Schmelz entkalken würde.

Aber erst ORLAND (61) konnte durch Tierexperimente schlüssig beweisen, daß die Anwesenheit von Bakterien eine Grundbedingung für das Entstehen der Karies darstellt. Er zog Ratten bei kariogener Diät steril auf mit dem Ergebnis, daß nur die Kontrollgruppe an Karies erkrankte, die steril gehaltenen Tiere aber trotz kariogener Kost vollkommen kariesfrei blieben.
Die Mikroorganismen besiedeln die Mundhöhle wie auch andere Körperhöhlen mit einer bunten Vielfalt von Familien und Gattungen. Umfang und Zusammensetzung dieser Besiedlung bestimmt das biologische Milieu. BERGER (2) hat deshalb die Mundhöhle als Biotop eingestuft, der sich in ein vielfältiges Mosaik von Mikrobiotopen aufgliedert.

Auf Grund der Tatsache, daß die Mundflora eine Schleimhautflora und keine Speichelflora ist, wird verständlich, daß Keimzahlen, die aus Speichelproben gewonnen wurden, nur Auskunft geben können über die Durchschnittsflora, nicht aber über die quantitativen und qualitativen Verhältnisse der einzelnen Mikrobiotope. So stellen im Speichel nach MACDONALD (51) die Streptokokken, die Neisserien und die Veillonellen mit je 10^{7-8} Keimen im Milliliter Speichel das Hauptkontingent.

Betrachtet man die quantitativen Verhältnisse in den Plaques, die für das Kariesgeschehen primär maßgebend sind (24,74), bleiben nach MACDONALD (51) hauptsächlich Streptokokken und Neisserien mit je 10^{10} Keimen pro Gramm Plaques bestimmend.

Zur Klassifikation der Neisserien ist zu bemerken, daß sie - im Gegensatz zu den Streptokokken - strenge Aerobier sind und sich färberisch gramnegativ verhalten. Sie sind eng spezialisierte Kommensalen, die fast nur auf Mund- und Nasenschleimhäuten von Mensch und Tier angetroffen werden. Die in der menschlichen Mundhöhle vorkommenden Arten sind in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit nach BERGER (2) Neisseria sicca (45 %), Neisseria perflava (40 %), Neisseria subflava-flava (10 %), Neisseria cinerea (3 %) und Neisseria catarrhalis (1 %). Die säurebildenden Arten aller Neisserien stellen etwa 95 % dar. Die Neisseria perflava zeichnet sich innerhalb der anspruchslosen Neisserien durch ihr Hämolysevermögen, durch konstante Pigmentbildung und durch ihre antigene Struktur aus. Maltose, Saccharose und Polysaccharide werden fermentativ abgebaut.

In den Plaques, die zu über 70 % aus Bakterien bestehen (82), dürften die Neisserien als Aerobier in den äußeren Schichten lokalisiert sein. Aus Versuchen in vitro ist bekannt (76), daß Neisserien oberhalb einer Wasserstoffionenkonzentration

von 10^{-6} ihr Wachstum einstellen. Auch sind sie nicht fähig, innerhalb einer bestimmten Zeitspanne den pH-Wert unter 6,0 zu senken. Unter vergleichbaren Versuchsbedingungen erreichen Lactobacilluskulturen den von allen Säurebildnern niedrigsten pH-Wert von ca. 3,8, die Streptokokken Werte von 4,6 (72). Auch vermögen sich die Lactobacillen bis zu einem pH von 4,7 herunter zu vermehren, die Streptokokken bis pH 5,5.

Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration in den Plaques für die Entstehung eines kariösen Defektes läßt sich leicht aus folgender Gleichung ablesen (31):

$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 8\ H^+ \rightarrow 10\ Ca^{2+} + 6\ HPO_4^{2-} + 2\ H_2O$;

Sicherlich wird diese Reaktion noch von anderen Variablen beeinflußt wie Temperatur, Spülfunktion des Speichels und Konzentration der undissoziierten schwachen Säure im Puffersystem, dennoch liegt die primäre Rolle der Plaquebakterien in der Kariesbildung durch ihre säurebildende Eigenschaft auf der Hand.

ERICSSON (25) stellte fest, daß erst unterhalb eines 'kritischen pH-Wertes' das Ionengleichgewicht zwischen dem Hydroxylapatit des Schmelzes und den Calcium- und Phosphationen in Plaques und Speichel gestört wird und dadurch zu einer Decalcifikation des Schmelzes führt. Er nannte kritische Werte von 5,5 bis 6,0. Tatsächlich werden in Plaques und

Kavitäten nach Arbeiten von CALDWELL und BIBBY (17) pH-Werte von 5,0 bis 6,0 mit Abweichungen bis zu pH 4,6 gefunden. Auch ENGLANDER et al. (22,23) konnten zeigen, daß durch Glukose- und Rohrzuckergaben bei kariesanfälligen Personen die pH-Werte in den Plaques auf 5,5 abfallen können.

Bei Beachtung dieser Daten können die Neisserien allein nicht fähig sein, die Wasserstoffionenkonzentration über den kritischen Wert zu steigern; trotzdem dürften sie mit einem nicht zu geringen Anteil an der Säureproduktion beteiligt sein.

II. Kariesprophylaktische Maßnahmen

Die meisten kariesprophylaktischen Maßnahmen richten sich gegen die säurebildenden Mikroorganismen oder versuchen auf irgendeine Weise in die fermentative Säurebildung einzugreifen.

Hemmung der Bakterien selbst hat man erreicht durch Verabreichung von Antibiotika, insbesondere Penicillin, eine Tatsache, die wiederum als Beweis für die Notwendigkeit der Bakterien bei der Entstehung der Karies zu werten ist. Im Tierversuch zeitigten diese Experimente recht gute Erfolge

(71), beim Menschen jedoch wurden die Erwartungen aus unerklärlichen Gründen nicht erfüllt (36,83). Grundsätzlich ist aber eine solch unkontrollierte Verwendung von Antibiotika, die die Gefahr der Bildung von resistenten Keimen in sich birgt, abzulehnen.

Während des letzten Jahrzehnts hat eine beachtliche Anzahl von organischen Verbindungen Bedeutung erlangt, die als Zusätze zu Zahnpasten eine antienzymatische Wirkung auf die glykolytischen Fermente ausüben sollten. Zu erwähnen wären das Menadion, das zwar Lactobacillenkulturen hemmte, aber keine Wirkung im Tierversuch zeigte, (71,34) und das Natriumlauroylsarkosinat, das in der inhibitorischen Wirkung dem Natriumdehydroacetat überlegen ist. FOSDICK et al. (28,29) waren es, die diese beiden Zusätze propagierten; doch sind weitergehende Untersuchungen unterblieben.

Ganz im Gegensatz zu den bisher angeführten Agentien ist die kariesprophylaktische Wirkung des Fluors kaum umstritten und wohl am gründlichsten von allen untersucht worden (35). Durch die Beobachtung und statistische Erforschung, daß in Gemeinden mit natürlichem fluorreichem Trinkwasser der Kariesbefall bedeutend niedriger lag als in Nachbarorten mit fluorarmen Quellen, war die kariesinhibierende Rolle des Fluors aufgedeckt und propagiert worden (2o,21). Durch künstliche Fluoridierung des Trinkwassers wurde eine ca. 50 %ige Karies-

reduktion erreicht (19,35). In aller Welt - vor allem in den USA - wurden Trinkwasserfluoridierungsanlagen gebaut und auch in Deutschland befürworteten 1957 Fluorexperten in einer öffentlichen Stellungnahme die Fluoridation des Wassers (69). Auch andere Transportvehikel für das Fluor werden diskutiert, wie z.B. die Milch, das Kochsalz, Tabletten oder einzunehmende Tropfen (19). Als optimale Dosis der Trinkwasserfluoridierung hat sich 1 ppm erwiesen, die die Auswirkungen einer Fluorose wie mottled enamel, erhöhte Knochenfrakturanfälligkeit, verschlechterte Heilungstendenz bei Frakturen, Arthritiden und Exostosen völlig ausschließen (2o,21).
Die Trinkwasserfluoridierung bringt den Vorteil mit sich, daß Fluor schon während der wichtigen Entwicklungsphase den Zähnen zugeführt wird. Doch auch in ihrer Gebrauchsperiode ist es möglich, durch die sog. topical application, d.h. durch Pinselung der Zähne mit NaF-, SnF_2- und Aminfluoridlösungen, eine signifikante Kariesreduktion zu erreichen (57, 62, 77, 81).

III. Mechanismus der kariesreduzierenden Fluorwirkung

Da empirisch der kariesreduzierende Effekt des Fluors unumstritten ist, stellt sich die Frage nach dem oder den Wirkungsmechanismen. Einer der ersten Theorien lag die Beobach-

tung zu Grunde, daß mit Fluor vorbehandelter Schmelz - wahrscheinlich durch Bildung von Fluorapatit - bei Einwirken von Säuren weniger löslich war (79). Zwar wurde diese Theorie nach Arbeiten von JENKINS und SPEIRS (41), JENKINS (39) und FINN und DEMARCO (26) insofern widerlegt, als Schmelz aus kariesarmen Fluorgebieten eine nur unbedeutend geringere Löslichkeit gegenüber fluorarmem Schmelz besitzt. Doch vermag das Fluor nach BRUDEVOLD und MESSER (15) sowie BRUDEVOLD et al. (16) durch seine Anwesenheit in nur geringer Konzentration (0,2 ppm) die Phosphataufnahme bzw. Remineralisation der Zahnoberfläche durch Apatitbildung zu katalysieren. Auch liegt die Bedeutung des gebildeten Fluorapatits nach GRAY (31) und ISAAC et al. (37) nicht darin, von vorneherein unlöslicher zu sein als Hydroxylapatit. Der Fluorapatit bildet vielmehr - wie auch der Speichel - ein Reservoir für Fluorionen, die sich als CaF_2 auf der Schmelzoberfläche niederschlagen und so eine wirksame Diffusionsbarriere für aggressive H_3O^+- Ionen aufbauen.

Schon viel früher und neuerdings mit zahlreichen gewichtigen Argumenten wurde die Theorie der antienzymatischen Karieshemmung diskutiert. Sehr geringe Fluormengen in der Größenordnung 1 - 2 ppm vermögen in vitro die Säureproduktion von Mundhöhlenmikroorganismen zu vermindern (3, 39, 71). Die antienzymatische Wirkung des Fluors ist schon seit langem bekannt und schon eine Vielzahl von Fermenten wurde als

fluorempfindlich eingestuft (49). Im Kohlenhydratstoffwechsel wurde zuerst die Hemmung der Enolase von WARBURG und CHRISTIAN (80) beschrieben. Ferner werden die Hexokinase und die Phosphoglukomutase eindeutig inhibiert, deren Untersuchung wir NICKERSON und CHUNG (60) sowie MELCHIOR und MELCHIOR (55) zu verdanken haben.

WARBURG und CHRISTIAN (80) erklären den Hemmungsmechanismus dieser Mg-aktivierten Fermente mit der kompetitiven Hemmung durch Komplexbildung. Sie konnten nachweisen, daß Fluor zusammen mit Magnesium- und Phosphationen Komplexe bildet und somit den Metallaktivator blockiert. Es ist erklärlich, daß damit der Zuckerabbau über den Embden - Meyerhof - Weg blockiert werden kann und vielfältige Auswirkungen auf den Eiweiß-, Fett- und Transportmetabolismus auftreten.

Um diese Wirkungen entfalten zu können, muß das Fluor erst die Bakterienmembranen durchdringen. Dabei besteht aber eine zwingende Abhängigkeit vom herrschenden pH (LOTT und v.a. (49)). Bei der Stoffwechselhemmung der Hefe durch Fluor fanden RUNNSTRÖM und SPERBER (68) eine beträchtlich größere Inhibition bei pH 5 als bei pH 6. RUNNSTRÖM und SPERBER und auch MALM (52) fanden dafür folgende Erklärung: Das Penetrationsvermögen des Fluors ist weniger von der extrazellulären Konzentration an Fluorionen abhängig als vielmehr von der pH - bedingten Anwesenheit von undissoziierter Flußsäure (HF).

Nach dem Massenwirkungsgesetz vermehrt sich die Konzentration an HF mit dem Fallen des pH. Da nach STEPHAN und MILLER (75) sowie STRÅLFORS (76) in den Plaques pH-Werte um 5,0 erreicht werden können, ist die Voraussetzung für die Bildung von HF und des Eindringens dieses anscheinend leichter penetrierenden Moleküls in die Bakterienmembran gemäß des Konzentrationsgradienten gegeben. Eine Stütze für diese Annahme geben Versuche von JENKINS (40), die eine Hemmung von Speichelbakterien durch Fluor erst erkennen ließen, wenn die Wasserstoffionenkonzentration von 10^{-7} auf 10^{-5} gestiegen war.

Gemäß des biologischen Grundgesetzes, daß minimale Dosen eines Giftes eine positive Wirkung entfalten können, haben BOREI (5) sowie RUNNSTRÖM und SPERBER (68) einen stimulierenden Einfluß niedriger Fluorkonzentrationen auf den Stoffwechsel von Hefezellen beobachtet. Erst bei höheren Konzentrationen trat die oben geschilderte Hemmung ein. Im menschlichen Speichel stellte LILIENTHAL (48) das gleiche Phänomen des beschleunigten Kohlenhydratabbaus fest.

Auch der Arbeitskreis um BRAMSTEDT und NAUJOKS (10,11,12,13) kam bei seinen Speicheluntersuchungen zu dem Ergebnis, daß erst NaF - Konzentrationen von 10^{-2} M die Verbrennung und Gärung im Speichel hemmen, während geringere von 10^{-4} M, die in der Mundhöhle bei der Trinkwasserfluoridierung vorkommen,

eine signifikante Steigerung des Glukoseabbaus im Speichel unter aeroben und anaeroben Bedingungen bewirken. Die Folgerung, daß die Kariesreduktion durch Aktivierung des bei kariesanfälligen Personen verlangsamten Speichelstoffwechsels erfolgt, liegt nahe (44, 45, 58).

PROBLEMSTELLUNG

Statistische Untersuchungen haben die kariesreduzierende Eigenschaft des Fluors überzeugend bewiesen. Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus kann aber noch nicht eindeutig beantwortet werden. Erkenntnisse über die Hemmung der Glykolyse durch Fluor lenken die Aufmerksamkeit auf eine mögliche Inhibition der Mundbakterien, die durch ihren Stoffwechsel die kariogenen organischen Säuren produzieren.

Um differenzierte Aussagen machen zu können, ist es notwendig, den Komplex Kariesätiologie zu entwirren und die Einzelwirkungen des Fluors auf isolierte Mundbakterienstämme zu untersuchen. Ein Anfang wurde bereits durch Untersuchungen des Speichels (11, 12) und von isolierten Speichelbakterien (46) gemacht. Von größtem Interesse ist es aber, wie sich die Plaquebakterien, die in den Kariesprozeß unmittelbar eingreifen, unter der Einwirkung von Fluor verhalten.

In der vorliegenden Arbeit wurden Neisserien aus Zahnplaques bei verschiedenen Fluorkonzentrationen untersucht. Um eine Angleichung an die Verhältnisse in den Plaques zu erreichen, wurden die Versuche auch bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen durchgeführt.

MATERIAL UND METHODEN

Als Untersuchungsmaterial stand ein Stamm von Neisseria perflava zur Verfügung, der im Bakteriologischen Laboratorium der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Hamburg aus den Plaques eines kariesanfälligen Probanden isoliert wurde.[x] Der Stamm wurde auf festen Nährböden - auf Blut-Agar-Platten (6-8% Blut- und Peptonagar) - gezüchtet und alle 24 Stunden auf frische Platten überimpft. Die Neisserien wurden 16 Stunden vor Versuchsbeginn auf Blut-Agar-Platten überimpft und bei 37° C bebrütet, da in Vorversuchen nach dieser Zeit die größte Stoffwechselaktivität festgestellt wurde. Zur Gewinnung der Bakterien wurde der Rasen auf der Platte mit physiologischer Kochsalzlösung überschwemmt und vorsichtig mit einem Metallspatel vom Agar gestrichen. Diese Suspension wurde dann zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und 10 Minuten lang bei 4000 Upm zentrifugiert. Nach Aufnehmen des gelblichen Sedimentes mit 0,9 % NaCl-Lösung wurde nun die Aufschwemmung in einem Homogenisator nach Potter-Elvehjem sorgfältig homogenisiert. Um gleiche Versuchsbedingungen bezüglich der Menge der Bakterien zu schaffen, wurde 0,1 ml der Suspension auf das 400 fache verdünnt und im Eppendorf-

---

x) Für die Überlassung der Bakterien danke ich Frau Dr.E. Ranke, Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Universität Hamburg.

Nephelometer in einer 10 mm - Küvette bei 405 mμ Wellenlänge untersucht. Die gefundene Extinktion E galt als Maß für die Bakteriendichte und wurde in Beziehung gesetzt zum Glukoseumsatz. Der Einfachheit halber und auch weil die gefundenen Extinktionen sich um 0,1 gruppierten, wurden alle Versuchsergebnisse auf 0,1 umgerechnet.
Diese Umrechnung erhält ihre Berechtigung durch das Lambert-Beer'sche Gesetz, nach dem die Extinktion linear abhängig ist von der Konzentration ($E = c \cdot d \cdot \varepsilon$;) .

Die Glukoseumsatzbestimmungen wurden mit Hilfe der manometrischen Technik nach WARBURG (78) an zwei Warburg-Apparaten zu je 14 Gefäßen bei aeroben Bedingungen durchgeführt.
Versuchsanordnung:
In je ein Reaktionsgefäß wurden pipettiert:

0,5 ml Bakteriensuspension
1,0 ml Puffer in verschiedenen pH-Werten
0,5 ml Glukoselösung
0,5 ml H_2O oder NaF-Lösung
0,2 ml 10 % NaOH (Zentralgefäß) zur CO_2-Absorption

Die gleichbleibenden Versuchsbedingungen waren:

Versuchstemperatur		37°C
Schüttelfrequenz	ca.	100/min
Amplitude	ca.	25 mm
Versuchsdauer		60 min
Temperaturausgleichszeit		15 min

Die Gefäße an den Thermobarometern enthielten an Stelle der Bakterien Wasser.

Als Puffer fand der Citronensäure-Phosphat-Puffer nach Mc Ilvaine (54) Verwendung, dessen Eigenschaften für die vorliegenden Versuchsbedingungen ideal sind. Sein pH-Bereich erstreckt sich von 2,2 bis 8,0. Der Puffer setzt sich zusammen aus zwei Stammlösungen: 0,1 mol Citronensäure und 0,2 mol Dinatriumphosphat. Die Variation der pH-Werte erfolgte nach Angaben von "Documenta Geigy", Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage und wurde mittels der Glaselektrode unter Berücksichtigung der Zimmertemperatur nachgeprüft und eingestellt.
Die Befürchtung, der Citronensäure-Phosphat-Puffer würde als Substrat für den Stoffwechsel der Bakterien dienen und damit einen gesteigerten Glukoseumsatz vortäuschen, wurde durch Vergleiche mit dem bei pH 7 üblichen Veronalpuffer nach FISCHER zerstreut. Sie ergaben eine so geringfügige Aktivierung, daß sie vernachlässigt werden konnte.
Eine Nachprüfung der bei Zimmertemperatur eingestellten Pufferlösungen bei 37° C ergab keine Veränderung der pH-Werte. Die Kapazität des Puffers erwies sich ebenfalls als ausreichend. Messungen vor und nach dem Versuch ließen nicht erkennen, daß die pH-Werte durch entstehende Säuren verändert wurden.

Die Molarität der Glukoselösung betrug $1o^{-1}$, so daß die Konzentration im Reaktionssystem 1/50 molar war.

Die NaF-Lösungen wurden in solchen Konzentrationen hergestellt, daß im Ansatz eine Molarität von 10^{-5}, 10^{-4} oder 10^{-3} herrschte.

a) 1/20000 mol Lösung $\hat{=}$ 10^{-5} mol im Ansatz = 0,4 ppm
b) 1/2000 mol Lösung $\hat{=}$ 10^{-4} mol im Ansatz = 4,2 ppm
c) 1/200 mol Lösung $\hat{=}$ 10^{-3} mol im Ansatz = 42 ppm

Der Sauerstoffverbrauch - angegeben in μl und bezogen auf Normalbedingungen - diente als Maß für den Glukoseumsatz der Neisserien.
Die am Manometer abgelesene und mit den Werten des Thermobarometers korrigierte Druckdifferenz wurde mittels der Gefäßkonstanten, die alle sich während des Versuchs nicht ändernden Faktoren zusammenfaßt, in μl O_2 umgerechnet. Daraus wurde der Glukoseumsatz ermittelt.

STATISTIK

Die statistischen Berechnungen wurden nach dem Signifikanz-t-Test von R.A.FISHER durchgeführt (27).

Hiernach ist

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sum i \left(x_{i1} - \bar{x}_1 \right)^2 + \sum i \left(x_{2i} - \bar{x}_2 \right)^2}{N_1 + N_2 - 2} \left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}} ;$$

$\bar{x}_1, \bar{x}_2$	= Mittelwerte zweier Versuchsreihen
x_{1i}, x_{2i}	= Einzelwerte
$\sum i \left(x_{1,2i} - \bar{x}_{1,2} \right)^2$	= Summe der Quadrate der Einzelabweichungen vom Mittelwert einer Versuchsreihe
N_1, N_2	= Anzahl der Einzelversuche einer Versuchsreihe
$N_1 + N_2 - 2$	= Freiheitsgrade

t stellt - bei gegebenen Freiheitsgraden - ein Maß für die Wahrscheinlichkeit der zahlenmäßigen Differenz von zwei Versuchsreihen dar. Die entsprechenden Werte wurden den Tabellen der "t" - Verteilung von R.A. FISHER entnommen.
Die untere Grenze des Kriteriums der Signifikanz stellte 98 % Wahrscheinlichkeit dar.

ERGEBNISSE

Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava - ausgedrückt in μl O_2 - Verbrauch pro 0,5 ml Bakteriensuspension pro 60 min Versuchsdauer - wird von der Wasserstoffionenkonzentration und der NaF-Konzentration des Reaktionsgemisches beeinflußt.

Aus den Versuchen mit variablen pH-Werten ohne NaF-Zusatz (Tabelle I und Abbildung 1) ergibt sich, daß bei einem Fallen des pH-Wertes erst bei pH 4,5 eine signifikante Hemmung von 91 % eintritt (8,6 μl O_2-Verbrauch bei pH 4,5 gegen 106,2 μl O_2-Verbrauch bei pH 7). Die Mittelwerte des Glukoseumsatzes von pH 5 bis pH 7 hingegen weisen keine signifikanten Unterschiede auf.

Die Tabellen II, III und IV enthalten die Werte aus den Versuchen mit variablen pH-Werten und NaF-Konzentrationen. Die graphische Auswertung zeigen die Abbildungen 2 und 3. Die 10^{-4} und 10^{-5} mol NaF-Konzentrationen beeinflussen den Glukoseumsatz nicht; die entsprechenden Kurven in Abbildung 2 kann man als identisch mit derjenigen ohne Zusatz bezeichnen, da sie keine signifikanten Unterschiede aufweisen. Lediglich bei einer 10^{-3}mol NaF-Konzentration läßt sich eine Hemmung von 18 % bei pH 5 feststellen (100 μl O_2 bei pH 5 und 10^{-3} mol NaF gegen 124,4 μlO_2 bei pH 5 ohne NaF-Zusatz) :

Ein Ergebnis, das einer statistischen Überprüfung standhält.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava bei fallenden pH-Werten von 7 bis 4 erst ab 4,5 hemmen läßt. Die gleiche Hemmung tritt schon bei pH 5 ein im Verein mit einer 10^{-3} mol NaF-Konzentration.

Zu den Einzelwerten der Versuchsreihen muß bemerkt werden, daß sie schon Mittelwerte aus zwei Parallelversuchen darstellen. Die Einzelwerte mit der gleichen Versuchsnummer in den Tabellen II, III und IV entsprechen einem Versuch.

Tabelle Ia: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflave in Abhängigkeit vom pH-Milieu in halben Stufen von pH 4 bis pH 7.
Werte in µl O_2-Verbrauch / 0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min.
M_1 = Mittelwerte in µl O_2-Verbrauch
M_2 = Mittelwerte in µMol Glukoseumsatz

Nr.	pH 4	pH 4,5	pH 5	pH 5,5	pH 6	pH 6,5	pH 7
1	87,1		91,3		125,3	133,3	115,0
2	127,7		126,9		137,8	147,3	178,5
3	58,5		120,0		104,0	143,9	115,0
4	92,3		116,3		112,3	117,0	157,7
5	88,8		106,5		121,5	124,0	128,0
6	96,1		112,2		143,3	137,7	127,3
7	65,2		97,8	87,5	118,4	106,0	108,0
8	65,2		78,7	90,5	89,5	74,7	122,3
9	83,6		88,3	101,5	101,0	97,3	77,1
10	78,1		83,6	100,0	106,5	95,9	112,2
11	80,6		72,8	89,0	84,1	86,5	91,0
12	96,7		95,5	109,7	113,1	100,0	84,2
13	65,8	78,5	95,6		95,7	90,6	132,6
14	97,0	101,9	112,4		118,8		92,5
15	100,0	85,7	103,5		103,6	93,1	84,0
16	66,7	65,5	69,0		81,3	65,5	74,9
17	79,2	79,4		84,1	91,7	90,3	92,8
18	80,9	76,6		98,4	76,7	71,8	65,0
19	103,2	88,2		121,0	111,0	88,6	74,7
20	84,5	93,2		101,0	106,0	110,0	124,0
21	93,3	91,8		98,4	106,8	89,7	115,5
22		86,7	94,0	116,5	113,0	95,2	93,1
23		94,4	99,0	110,3	123,8	104,3	95,5
24		96,8	106,3	116,0	128,5	88,9	88,6
M_1=	85,3	86,6	98,4	101,7	108,9	102,3	106,2
M_2=	0,63	0,64	0,73	0,75	0,81	0,76	0,79

Tabelle II a: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava in Abhängigkeit vom NaF-Zusatz verschiedener Konzentration bei pH 5.

Werte in µl O_2-Verbrauch / 0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min.

M_1= Mittelwerte in µl O_2-Verbrauch
M_2= Mittelwerte in µMol Glukoseumsatz

Nr.	10^{-3} M	10^{-4} M	10^{-5} M	ohne Zus.
1	99,1	101,0	104,6	113,3
2	90,8	99,6	104,9	101,1
3	111,5	132,8	137,8	137,3
4	99,7	153,8	155,8	151,0
5	127,0	128,0	130,6	128,1
6	109,4	125,7	124,4	121,7
7	112,2	129,7	129,5	128,2
8	99,4	127,2	134,8	135,0
9	80,0	112,8	117,1	117,4
10	123,5	114,7	145,5	149,0
11	77,8	102,7	106,2	103,5
12	73,6	104,4	109,9	107,5
M_1 =	100,4	121,9	123,7	124,4
M_2 =	0,74	0,90	0,92	0,92

Tabelle IIb: Statistische Überprüfung der Differenzen der Mittelwerte. Die untere Hälfte der Tabelle gibt die t-Werte wieder, die obere gibt Auskunft über die Signifikanz (98%).

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	o.Zus.
10^{-3}	///	+	+	+
10^{-4}	2,998	///	-	-
10^{-5}	3,324	0,252	///	-
o.Zusatz	3,453	0,351	1,101	///

Tabelle III a: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava in Abhängigkeit vom NaF-Zusatz verschiedener Konzentration bei pH 6.

Werte in µl O_2-Verbrauch / 0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min.

M_1 = Mittelwerte in µl O_2-Verbrauch

M_2 = Mittelwerte in µ Mol Glukoseumsatz

Nr.	10^{-3} M	10^{-4} M	10^{-5} M	ohne Zus.
1	114,3	109,6	149,5	146,6
2	107,8	111,9	88,7	90,7
3	143,8	144,4	142,7	144,0
4	160,2	163,1	157,3	158,3
5	151,8	151,3	155,0	138,9
6	121,4	152,7	147,8	142,7
7	142,6	129,7	152,0	157,7
8	134,9	158,2	121,7	139,0
9	122,4	123,9	12o,4	122,0
1o	161,7	17o,2	17o,4	175,o
11	131,1	129,9	121,o	12o,9
12	124,9	131,7	12o,o	122,o
M_1=	134,8	139,5	138,3	138,1
M_2=	1,00	1,03	1,02	1,02

Tabelle IIIb: Statistische Überprüfung der Differenzen der Mittelwerte. Die untere Hälfte der Tabelle gibt die t-Werte wieder, die obere gibt Auskunft über die Signifikanz (98%).

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	o.Zus.
10^{-3}	///	-	-	-
10^{-4}	0,614	///	-	-
10^{-5}	0,419	0,137	///	-
o.Zusatz	0,405	0,163	0,021	///

Tabelle IV a: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava in Abhängigkeit vom NaF-Zusatz verschiedener Konzentration bei pH 7.

Werte in µl O_2-Verbrauch / 0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min.

M_1= Mittelwerte in µl O_2-Verbrauch
M_2= Mittelwerte in µ Mol Glukoseumsatz

Nr.	10^{-3} M	10^{-4} M	10^{-5} M	ohne Zus.
1	211,8	2o6,o	2o9,2	2o4,2
2	124,8	123,8	121,7	119,5
3	133,1	125,2	13o,o	191,o
4	178,5	184,3	182,6	181,5
5	117,3	129,o	159,8	153,5
6	118,9	98,8	119,8	148,5
7	151,0	146,1	149,5	161,8
8	124,3	121,4	126,8	148,o
9	142,8	137,6	142,9	143,5
1o	17o,6	181,7	177,o	175,o
11	122,7	122,3	125,o	122,5
12	12o,o	122,5	122,7	123,5
M_1=	143,o	141,5	148,o	156,o
M_2=	1,o6	1,o5	1,1o	1,16

Tabelle IV b: Statistische Überprüfung der Differenzen der Mittelwerte. Die untere Hälfte der Tabelle gibt die t-Werte wieder, die obere gibt Auskunft über die Signifikanz (98%) .

	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	o.Zus.
10^{-3}	///	-	-	-
10^{-4}	0,118	///	-	-
10^{-5}	0,413	0,517	///	-
o.Zusatz	1,109	1,187	0,686	///

Tabelle Ib: Statistische Überprüfung der Differenzen der Mittelwerte in Tabelle Ia.

Tabellen V,VI,VII: Statistische Überprüfung der Differenzen der mittleren Glukoseumsätze bei variablen pH-Werten und konstanter NaF-Konzentration.

Die untere Hälfte der Tabellen gibt die t-Werte wieder, die obere gibt Auskunft über die Signifikanz (98%).

Tabelle Ib:

pH	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0
4	///	-	+	+	+	+	+
4,5	0,251	///	-	+	+	-	+
5,0	2,613	0,259	///	-	-	-	-
5,5	3,261	3,496	0,681	///	-	-	-
6,0	4,741	5,093	2,108	1,379	///	-	-
6,5	2,873	2,295	0,646	0,092	1,133	///	-
7,0	5,500	6,068	2,134	1,1516	0,692	0,789	///

Tabelle V:
10^{-3} M NaF

pH	5,0	6,0	7,0
5,0	///	+	+
6,0	4,821	///	-
7,0	4,277	0,821	///

Tabelle VI:
10^{-4} M NaF

pH	5,0	6,0	7,0
5,0	///	-	-
6,0	2,288	///	-
7,0	1,866	0,183	///

Tabelle VII:
10^{-5}M NaF

pH	5,0	6,0	7,0
5,0	///	-	-
6,0	1,768	///	-
7,0	2,499	0,8989	///

Abbildung 1: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava in Abhängigkeit vom pH-Milieu. Als Maß gilt der O_2 - Verbrauch in µl /0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min.

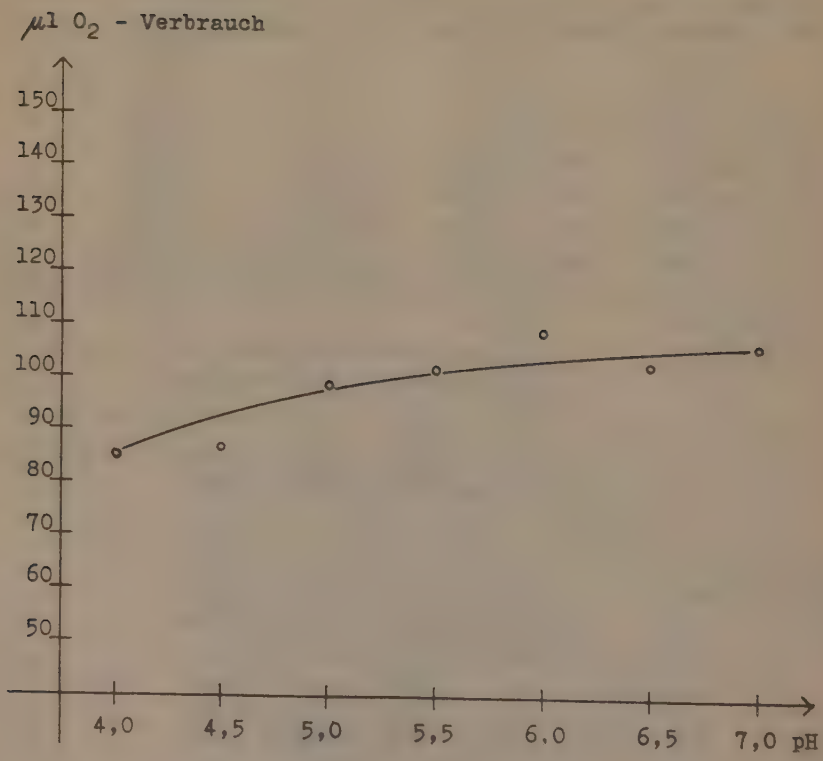


Abbildung 2: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava in Abhängigkeit von pH-Milieu und verschiedenen NaF-Konzentrationen. Als Maß gilt der O_2-Verbrauch in µl/ 0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min. Jede Kurve entspricht einer bestimmten NaF-Konzentration bei variablem pH-Wert des Reaktionsgemisches.

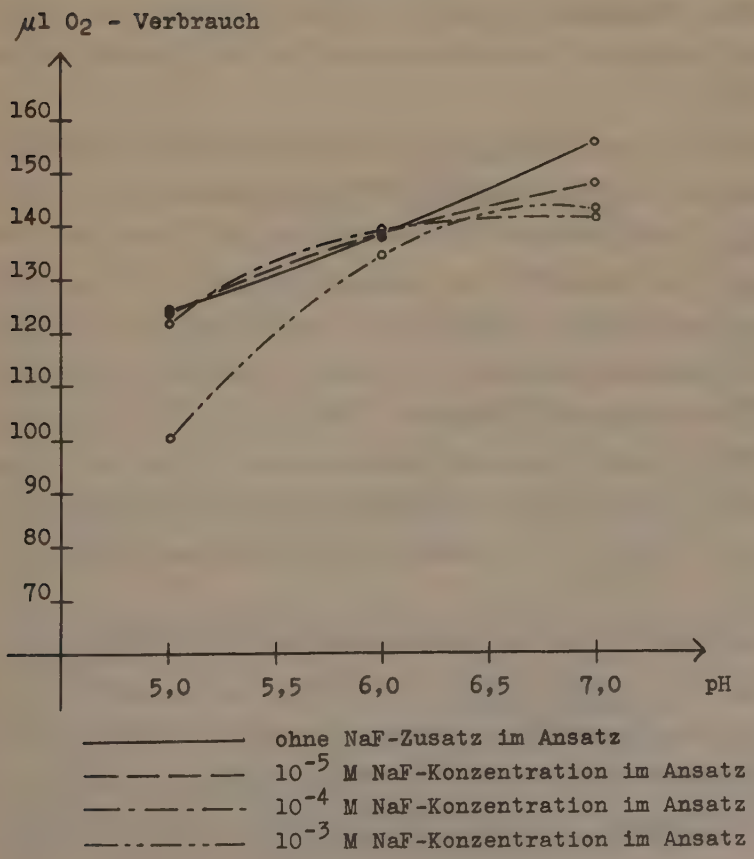
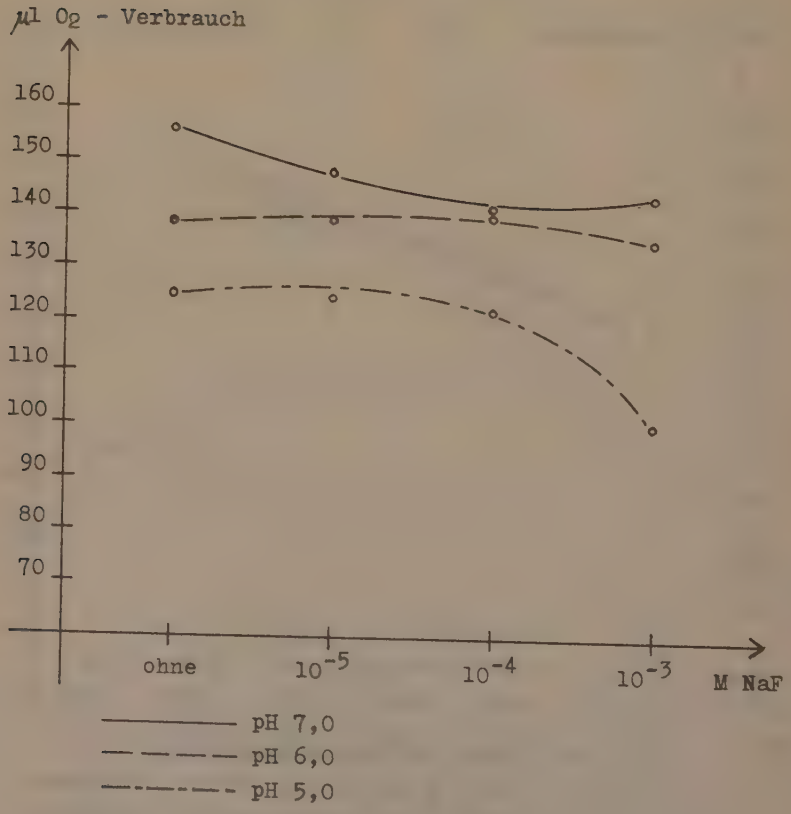


Abbildung 3: Der aerobe Glukoseumsatz von Neisseria perflava in Abhängigkeit von pH-Milieu und verschiedenen NaF-Konzentrationen. Als Maß gilt der O_2-Verbrauch in µl/ 0,5 ml Bakteriensuspension / 60 min. Jede Kurve entspricht einem bestimmten pH-Wert bei variablen NaF-Konzentrationen des Reaktionsgemisches.



DISKUSSION

In den Vipeholm - Untersuchungen (32,33) stellte sich heraus, daß nicht der Zuckerkonsum allein eine Steigerung der Kariesfrequenz hervorruft, sondern vielmehr die Dauer des Verweilens der Zucker in der Mundhöhle. LUNDQUIST (50) prägte dafür den Begriff der sugar - clearance - time, die nach seiner Meinung von der Konsistenz der Kohlenhydrate abhängt.

BRAMSTEDT, KRÖNCKE, NAUJOKS und Mitarbeiter (6, 7, 8, 9, 13, 59) untersuchten mit Hilfe der Warburg-Methode die Fähigkeit des Speichels, Kohlenhydrate zu vergären bzw. zu verbrennen. Die Ergebnisse brachten eine plausible Erklärung für die unterschiedliche Kariesfrequenz. Der Glukoseabbau und gleichbedeutend mit ihm die Eliminationsgeschwindigkeit der Zucker aus dem Speichel, gemessen an der Sauerstoffaufnahme, war bei Kariesresistenten bedeutend höher als bei Kariesanfälligen: Ein augenfälliger Zusammenhang, der auch zur Diskussion als Kariestest führte (44, 45, 58).

Nach STRÅLFORS (76) diffundieren Zucker aus dem Speichel in die Plaques, wo sie von denjenigen Bakterien, die das entsprechende Enzymsystem besitzen, zu Milchsäure und anderen organischen Säuren abgebaut werden. Wenn die Säureproduktion in den Plaques so groß wird, daß nicht genügend ab-

diffundieren kann, wird der kritische pH-Wert erreicht und eine Entkalkung des Schmelzes findet statt. Die Kariesentstehung wird also begünstigt durch eine lange Verweildauer der Zucker in der Mundhöhle, die nach Diffusion in die Plaques zur Säurebildung durch säurebildende Bakterien führen.

GIBBONS und SOCRANSKY (30) beobachteten, daß Plaquebakterien aus dem im Überschuß angebotenen Zucker Polysaccharide synthetisieren und intrazellulär speichern. Auch wenn demnach der Zuckerkonsum nur kurzfristig eingeschränkt wird, können Zucker aus den gespeicherten Reserven zur Produktion von Säuren bereitgestellt werden.

Untersuchungen von BRAMSTEDT, KRÖNCKE und NAUJOKS (10,11,12) über die Beeinflussung des Glukoseabbaus im Speichel durch Fluor ergaben die überraschende Tatsache, daß gerade eine 10^{-4} M NaF-Konzentration, die bei einer Trinkwasserfluoridierung von 1 ppm in der Mundhöhle zu finden ist, keine Hemmung, sondern sogar eine signifikante Steigerung des Zuckerumsatzes hervorruft. Die Trinkwasserfluoridierung bewirkt also eine höhere Eliminationsgeschwindigkeit der im Speichel gelösten Zucker und verhindert damit die Diffusion in die Plaques.

RANKE und RANKE (65) u.a. trennten bei ihren Speicheluntersuchungen den Speichel in Sediment und Überstand und stellten fest, daß die fermentativen Eigenschaften des Speichels

an das Sediment, d.h. an die zelligen Elemente gebunden waren. BRAMSTEDT, KRÖNCKE und NAUJOKS (13) sowie KRÜGER (46) konnten durch ihre Untersuchungen an Speichelbakterien diese Ergebnisse bestätigen; außerdem wiesen sie eine signifikante Steigerung der Stoffwechselaktivität durch eine 10^{-4} M NaF-Konzentration nach, die den schon erwähnten Effekt bewirken, daß der bei Kariesanfälligen verlangsamte Stoffwechsel des Speichels beschleunigt und dem Kariesresistenter angenähert wird. Leider sind in der Literatur keine Hinweise über ähnliche Versuche mit Speichelneisserien zu finden, aber man darf annehmen, daß ihre Reaktion auf Fluor die gleiche ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche mit Neisserien aus Plaques können allerdings die bei Speichelbakterien gefundenen Eigenschaften nicht bestätigen. Die Plaque-Neisserien lassen sich von der in der Mundhöhle herrschenden NaF-Konzentration (10^{-4} M) nicht beeinflussen, auch nicht, wenn die Wasserstoffionenkonzentration erhöht wird. Ähnliche Ergebnisse ergaben Parallelversuche von RENNER (66), die mit Streptokokken aus Plaques durchgeführt wurden. Die Streptokokken ließen ebenfalls keine signifikante Aktivierung durch Fluor erkennen, sie wurden aber wesentlich mehr von der H^+ - Konzentration wie auch von der NaF-Konzentration beeinflußt. Bei den Streptokokken ist die Hemmung durch eine 10^{-3} M NaF-Konzentration bei pH 5 wesentlich stärker ausgeprägt. Auffallend ist, daß

diese Bakterien nicht die gleiche Reaktion auf Fluoride zeigen wie Speichelbakterien und geradezu reziprok auf fallende pH-Werte reagieren (51). Die Stoffwechselaktivität der Plaque-Neisserien läßt sich durch steigende H^+-Konzentration nur geringfügig hemmen, während der Glukoseabbau der Streptokokken kontinuierlich abnimmt und bei pH 4,0 praktisch Null erreicht. Wenn man einmal die aeroben Bedingungen außer Acht läßt, unter denen diese Versuche hier durchgeführt wurden, könnte man annehmen, daß die Neisserien in den Plaques durch ihre größere Säuretoleranz eine bedeutendere Rolle in der Säureproduktion der Plaques spielen als die Streptokokken. Um diese Ansicht zu klären, müßten aber noch weitere Versuche - vor allem unter anaeroben Bedingungen - durchgeführt werden.

In der Wertung der vorliegenden Ergebnisse darf man mit RENNER (66) annehmen, daß so verschiedene Reaktionen der gleichen Bakterien, aber aus Speichel oder Plaques isoliert, auf eine Mutation zurückzuführen ist, wozu Mikroorganismen bekanntlich neigen. Auch BRAMSTEDT, RANKE und NAUJOKS (14) machten bei ihren Untersuchungen die Erfahrung, daß sich Streptokokken aus Plaques und Speichel erheblich unterschieden. Die konträren Eigenschaften der hier untersuchten Plaquebakterien verhindern vor allem einen durch Fluor gesteigerten Abbau der Kohlenhydrate bis zur Milchsäure und auch

eine vermehrte Synthese (30), die den günstigen Effekt des erhöhten Glukoseabbaus im Speichel aufheben würden.
Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, daß die Wirkung des Fluors auf die Mundbakterien nicht einheitlich ist. Sie lassen sich jedoch zwanglos in die Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus des Fluors im Rahmen der Kariesreduktion einordnen.

ZUSAMMENFASSUNG

1) Mit der Warburg-Methode wurde der Glukoseabbau von Neisseria perflava, die aus menschlichen Zahnplaques isoliert wurden, bei verschiedenen Wasserstoffionen- und Natriumfluoridkonzentrationen unter aeroben Bedingungen untersucht.

2) Die Stoffwechselaktivität von Neisseria perflava wird vom pH-Wert wenig beeinflußt; erst ab pH 4,5 läßt sich eine signifikante Hemmung feststellen, die sich bis pH 4,0 nicht vergrößert.

3) 10^{-5} und 10^{-4} M NaF-Konzentrationen beeinflussen den O_2-Verbrauch bei pH-Werten von 5,0 bis 7,0 nicht.

4) Eine 10^{-3} M NaF-Konzentration bewirkt bei pH 5 eine geringe Hemmung.

5) Die Ergebnisse werden im Hinblick auf den Mechanismus der Kariesentstehung diskutiert.

Herrn Professor Dr. R. N a u j o k s erlaube ich mir, für die freundliche Überlassung des Themas, die ständige Hilfsbereitschaft während der Abfassung der Arbeit und die Übernahme des Referates meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Ebenfalls danke ich Herrn Professor Dr. F. B r a m s t e d t für seine Anregungen und zahlreichen Hinweise.

LITERATURVERZEICHNIS

1) Baarregaard A. — Dental conditions and nutrition among natives of Greenland. Oral Surg.med.Path. 2, 995-1007 (1949)

2) Berger U. — In: Berger U. und Hummel K., Einführung in die Mikrobiologie und Immunologie. Verlag Urban und Schwarzenberg, München, S. 249 - 294 (1964)

3) Bibby B.G. and van Kesteren M. — The effect of fluorine on mouth bacteria. J.Dent.Res. 19, 391 - 4o2 (1940)

4) Bodecker C.F. and Bodecker H.W.C. — The bacterial destruction of dental enamel. J.Dent.Res. 9, 37-53 (1929)

5) Borei M. — Zur endogenen Atmung und Gärung der Oberhefe I. Verhalten der Atmung gegen Fluorid und Azid. Biochem. Zschr. 312,160 (1942)

6) Bramstedt F. und Vonderlinn R. — Biochemische Speicheluntersuchungen II. Die Sauerstoffaufnahme des Speichels und ihre Beziehung zur Zahnkaries. Zahnärztl. Welt 22, 505 - 509 (1952)

7) Bramstedt F. und Vonderlinn R. — Die Sauerstoffaufnahme des Speichels und ihre Beziehung zur Zahnkaries. Zahnärztl. Welt 7, 22 (1952)

8) Bramstedt F. und Vonderlinn R. — Die Biochemie des Speichels in ihrer Beziehung zur Ernährung und Zahnkaries. Dtsch.zahnärztl. Zschr. 8, 69 - 71 (1953)

9) Bramstedt F., Kröncke A., Naujoks R. und Vonderlinn R. — Die Verbrennung organischer Substrate im Speichel kariesresistenter und kariesanfälliger Personen. Dtsch.zahnärztl.Zschr. 9, 782-791 (1954)

10) Bramstedt F., Kröncke A. und Naujoks R. — Biochemische Untersuchungen zur Fluorwirkung im Speichel kariesanfälliger und kariesresistenter Personen. Dtsch.zahnärztl.Zschr. 10, 311-313 (1955)

11) Bramstedt F., Kröncke A. und Naujoks R. — Über den Einfluß niedriger Fluorkonzentrationen auf den Kohlenhydratabbau im Speichel kariesanfälliger und kariesresistenter Personen. Prophylakt.Med. 1, 36-39 (1957)

12) Bramstedt F., Kröncke A. and Naujoks R. — The physiological effect of low doses of fluorine. J.Dent.Belge 6, 373-390 (1958)

13) Bramstedt F. und Naujoks R. — Biochemische Kariesforschung an der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten Hamburg seit 1949. Dtsch.zahnärztl.Zschr. 17, 867-880 (1962)

14) Bramstedt F., Ranke E. und Naujoks R. — Experimentelle Beiträge zur Biochemie der Plaques und ihre Beziehung zur Zahnkaries. Advances in fluorine research and dental caries prevention. Pergamon-Press, Oxford. Vol.2, 173-180 (1964)

15) Brudevold F. and Messer A.C. — Seeding effect of hydroxyapatite in calcifying solutions containing different levels of fluoride. J.Dent. Res. 40, 728 (1961)

16) Brudevold F., Messer A.C. and Amdur B.H. — Factors involved in remineralisation of carious lesions. Arch.Oral Biol. 6, 304 (1961)

17) Caldwell R.C. and Bibby B.G. — The effect of foodstuffs on the pH of dental cavity. J.Amer.Dent.Ass.57, 685-692 (1958)

18) Cremer H.D. — Karies bei Mensch und Versuchstier; ein Vergleich. Odont.Revy 8, 225-239 (1957)

19) Cremer H.D. — Arbeitsbericht Team II (Dosierungsteam). Communications du 5ème Congrès de l'ORCA,publié par J.Dent. Belge 98-106 (1958)

20) Dean H.T. — Endemic fluorosis and its relation to dental caries. Pub.Health Rep.53, 1443-1452 (1938)

21) Dean H.T., Jay P., Arnold F.A.,Jr. and Elvove E. — Domestic water and dental caries. II. A study of 2832 white children, aged 12-14 years, of 8 suburban Chicago communities, including lactobacillus acidophilus studies of 1761 children.Pub.Health Rep. 56, 761-792 (1941)

22) Englander H.R., Shklair I.L. and Fosdick L.S. — The effect of the saliva on the pH and lactate concentration in dental plaques. J.Dent.Res. 38, 848-853 (1959)

23) Englander H.R., Mazzarella M.A. and Fosdick L.S. — The effect of saliva on dental plaque. J.Dent.Res.38, 706 (1959)

24) Ennever J. — Studies on the bacterial plaque and dental caries. II.Method for isolation of actinomyces Israeli from bacterial plaque. J.Dent.Res. 28, 645 (1949)

25) Ericsson Y. — Investigations into the calcium and phosphate equilibrium between enamel and saliva and its relation to dental caries. Acta odont. scand 8, suppl. 3 (1949)

26) Finn S.B. and de Marco C. — The effect of artificial water fluoridation on the solubility of tooth enamel. J.Dent.Res.35, 185-188 (1956)

27) Fisher R.A. — In: Hodgman C.D.,Weast R.C. and Selby S.M., Handbook for Chemistry and Physics. The Chemical Rubber Publishing Co., Cleveland, Ohio S. 219-221 (1963)

28) Fosdick L.S. — Enzyme inhibitors as a factor in the control of dental caries. I. Amer.Dent.Ass. 52, 9-13 (1956)

29) Fosdick L.S., Calandra J.C. and Blackwell R.Q. — A new approach to the problem of dental caries control. J.Dent.Res. 32, 486-496 (1953)

30) Gibbons R.J. and Socransky S.S. — Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques Arch.oral Biol.7, 73-80 (1962)

31) Gray J.A. — In: Sognnaes R.F., Chemistry and Prevention of Dental Caries. Charles C. Thomas. Publisher., Springfield, Illinois, USA S.168 (1962)

32) Gustafsson B.E. — The Vipeholm dental caries study; survey of the literature on carbohydrates and dental caries. Acta odont.Scand. 11, 207-231 (1954)

33) Gustafson B.E., Quensel C.E., Lanke L.S., Lundquist C., Grahnén H., Bonow B.E. and Krasse B. — The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. Acta odont. Scand. 11, 232-364 (1954)

34) Hatton E.H., Dodds A., Hodge H.C. and Fosdick L.S. — The effect of prolonged ingestion of synthetic vitamin K in rats. J.Dent.Res. 24, 283-295 (1945)

35) Held A.J. — Erfahrungen und Probleme der Wasserfluorierung. Dtsch.zahnärztl.Zschr. 5, 271-277 (1955)

36) Hill T.J. and Kniesner A.H. — Penicillin dentifrice and dental caries experience in children. J.Dent.Res.28, 263-266 (1949)

37) Isaac S., Brudevold F., Smith F.A. and Gardner D.E. — Solubility rate and natural fluoride content of surface and subsurface enamel. J.Dent.Res. 37, 254-263 (1958)

38) Jay P. — The reduction of oral lactobacillus counts by the periodic restriction of carbohydrates. Amer.J. Orth. and Oral Surg. 33, 162-184 (1947)

39) Jenkins G.N. — A possible mechanism of the anti-caries action of fluoride. Odont. Revy 8, 68-70 (1957)

40) Jenkins G.N. — The effect of pH on the fluoride inhibition of salivary acid production. Arch. oral Biol. 1, 33-41 (1959)

41) Jenkins G.N. and Speirs R.L. — Distribution of fluorine in human enamel. J.Physiol. 121, 21 (1953)

42) Keyes P.H. — Recent advantages in dental caries research. Bacteriological findings and biological implications. Internat.Dent.J.12, 434-464 (1962)

43) Kite O.W., Shaw J.H. and Sognnaes R.F. — The prevention of experimental tooth decay by tube-feeding. J.Nutrit.42, 89-103 (1950)

44) Kröncke A. und Naujoks R. — Weitere Ergebnisse zur Entwicklung eines biochemischen Kariestestes. Dtsch.zahnärztl.Zschr.9, 565 (1954)

45) Kröncke A., Bramstedt R. und Naujoks R. — Die Sauerstoffaufnahme des Speichels. Ihre Grundlagen und ihre Brauchbarkeit als Kariestest. Verhandlungen der 6.Tagung der ORCA, Pavia 1959, Edition de la Clinique Dentaire de l'Université de Pavia. S. 97-106 (1959)

46) Krüger H. — Über den Glukoseabbau isolierter Stämme von Mikroorganismen der Mundhöhle und seine Beeinflussung durch niedrige Fluorkonzentrationen. Med.Dissertation Hamburg 1961.

47) Lammers T. — Bakteriologische Studien über die Mundflora und Mundhygiene. Dtsch. Zahn- Mund- Kieferheilk.18, 378-396; 441-447 (1953)

48) Lilienthal B. — The effect of fluoride on acid formation by salivary sediment. J.Dent. Res. 35, 197-204 (1956)

49) Lott V.H. — Die Bedeutung des Fluors für die Vorgänge an der Zahnoberfläche. Schweiz.Mschr.Zahnhk.72, 656-668 (1962)

50) Lundquist C. — Oral sugar clearance; its influence on dental caries activity. Odont. Revy 3, Suppl. 1, 121 (1952)

51) Macdonald J.B. — In:Sognnaes R.F., Chemistry and Prevention of Dental Caries. Charles C. Thomas. Publisher., Springfield, Illinois, USA S.89-125 (1962)

52) Malm M. — Quantitative Bestimmung der Permeabilität der Hefezellen für Fluor. Naturwiss.28, 723 (1940)

53) Martin J.J., Isenberg H.D., Schatz V., Trelaway G.S. and Schatz A. — Chelation or metal binding as a new approach to the problem of dental caries. Revista Euclides 14, 311-317 1954)

54) McIlvaine H. — J.biol.Chem.49, 183 (1921) zit. nach: Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6.Auflage: 277,Nr.13, Selbstverlag Basel (1962)

55) Melchior N.C. and Melchior J.B. — Inhibition of yeast hexokinase by fluoride ion.Science 124, 402 (1956)

56) Miller W.D. — Der Einfluß der Mikroorganismen auf die Karies der menschlichen Zähne. Arch.exper.Path. 16, 291-304 (1882-1883)

57) Muhler J.C. — The anticariogenic effectiveness of a single application of stannous fluoride in children residing in an optimal communal fluoride area. J.Amer.Dent.Ass. 61, 431-438 (1960)

58) Naujoks R. und Vonderlinn R. — Klinische Überprüfung der Möglichkeiten zur Entwicklung eines biochemischen Kariestestes auf der Grundlage des Sauerstoffverbrauches des menschlichen Speichels. Zahnärztl.Rdsch. 62, 438 (1953)

59) Naujoks R. und Kröncke A. — Die Sauerstoffaufnahme des Speichels bei Zahn- und Mundkrankheiten. Dtsch.zahnärztl.Zschr. 9, 105 (1954)

60) Nickerson J.W. and Chung C.W. — Reversal of fluoride inhibition of yeast growth with glucose-1-phosphate. Americ.J.Bot. 39, 669-679 (1952)

61) Orland F.J., Blayney J.R., Harrison R.W., Reyniers J.A., Wagner M., Trexler P.C., Gordon H.A. and Luckey T.D. — Use of the germfree animal technic in the study of the experimental dental caries. J.Dent.Res. 33, 147-174 (1954)

62) Pameijer J.H.N., Brudevold F. and Hunt E.E.Jr. — A study of acidulates fluoride solutions III. The cariostatic effect of repeated topical sodium fluoride applications with and without phosphate: A pilot study. Arch.oral Biol. 8, 183-185 (1963)

63) Pedersen P.O. — Ernährung und Zahnkaries primitiver und urbanisierter Grönländer.Dtsch. Zahn-Mund-Kieferheilk. 6, 728 (1939)

64) Pincus P. — Production of dental caries. A new hypothesis. Brit.Med.J. 2, 358-362 (1949)

65) Ranke E. und Ranke B. — Über den Sediment- und Proteingehalt des Speichels kariesanfälliger und kariesresistenter Personen. Arch.oral Biol. 6, 234-240 (1961)

66) Renner O. — Stoffwechselaktivität von Streptococcus mitis bei unterschiedlichem pH und verschiedenen NaF-Konzentrationen. Med.Dissertation Würzburg 1966.

67) Richardson R.L. and Jones M. — A bacteriologic sensus of human saliva. J.Dent.Res. 37, 697-708 (1958)

68) Runnström J. und Sperber E. — Zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Permeabilität und Stoffwechsel der Hefezelle. Biochem.Z. 298, 340 (1938)

69) Schmidt H.-J. — Jetzt wollen Techniker über Gesundheitsfragen urteilen. Zahnärztl.Mitt. 14, 670-672 (1966)

70 Shaw J.H. — The effect of carbohydrate-free and low diets on the incidence of dental caries in white rats.J.Nutrit. 53, 151-162 (1954)

71) Shaw J.H. and Sweeney E.A. — Comparative studies on the influence of antibiotic substances in dental caries in the white rat and the cotton rat. J.Dent.Res. 36, 349-360 (1957)

72) Snyder M.L. and Teachout J.J. — Acid production of oral bacteria associates with dental caries. J.Dent.Res. 21, 461-466 (1942)

73) Stelling E. and Gustafson G. — Experimental dental caries in animals A historical review. Odont Tids.60, 25-100 (1952)

74) Stephan R.M. — The dental plaque in relation to the etiology of caries. Internat. Dent.J. 4, 180-195 (1953)

75) Stephan R.M. and Miller B.F. — A quantitative method for evaluating physical and chemical agents which modify production of acids in bacterial plaques on human teeth. J.Dent.Res. 22, 1-12 (1943)

76) Strålfors A. — Investigations into the bacterial chemistry of dental plaques. Odont. tskr., Stockholm Vol.58, 155-335 (1950)

77) Trautz O.R. and Zapanta R.R. — Experiments with calcium carbonate phosphates and the effect of topical application with sodium fluoride. Arch.oral Biol. Special Supplement 4, 122-133 (1961)

78) Umbreit W.W., Burris R.H. and Stauffer J.F. — Manometric Techniques. Burgess Publishing Co., Minneapolis 1964

79) Volker J.F. — Studies on the acid solubility of human enamel. J.Dent.Res. 19, 35-40 (1940)

80) Warburg O. und Christian W. — Chemischer Mechanismus der Fluoridhemmung der Gärung. Naturwiss. 29, 590 (1941)

81) Wellock W.D. and Brudevold F. — A study of acidulated fluoride solutions II. The caries inhibiting effect of single annual topical applications of an acidic fluoride and phosphate solution. A two year experience. Arch.oral Biol. 8, 179-181 (1963)

82) Winkler K.C. and Backer Dirks O. — The mechanism of dental plaque. Internat.Dent.J. 8, 561-585 (1958)

83) Zander H.A. — Effect of a penicillin dentifrice on caries incidence in school children. J.Amer.Dent.Ass. 40, 569-574 (1950)

LEBENSLAUF

Am 29.Januar 1940 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr.Erwin Helm und seiner Ehefrau Irmgard, geb. Klug, in Mömlingen, Kreis Obernburg, geboren.
Von 1946 bis 1950 besuchte ich die Volksschule in Mömlingen, wechselte dann in das Humanistische Gymnasium Aschaffenburg über, wo ich im Juni 1959 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1959/60 begann ich an der Universität Würzburg mit dem Studium der Zahnheilkunde und bestand dort im Sommersemester 1962 die Zahnärztliche Vorprüfung. Mit der Zahnärztlichen Prüfung beendete ich am 21.September 1965 mein Studium in Würzburg.

Seit 1. Oktober 1965 war ich an der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten als wissenschaftliche Hilfskraft beschäftigt. Seit 5.September 1966 leiste ich meinen Wehrdienst als Stabsarzt der Reserve ab.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner Seite ein Dissertationsthema erhalten habe.

Klaus Helm

BÖHLER-DRUCK

87 WÜRZBURG, Wirsbergstr. 10
Tel. 54143

BÖHLER-DRUCK

87 WÜRZBURG, Wirsbergstr. 10
Tel. 54143